

由種子內基因及蛋白質表現看種子休眠 行為與發芽過程

葉虹伶¹⁾ 宋好²⁾

關鍵字：種子、休眠、發芽、蛋白質體學

摘要：參與種子休眠之因素複雜，目前已知許多不同功能之蛋白質皆於種子休眠及休眠解除過程中扮演重要角色，這些蛋白質同時受到調節種子休眠作用荷爾蒙 ABA 及 GA 之調控，休眠解除伴隨著種子內 ABA 含量及對 ABA 敏感性降低，同時種子內 GA 含量及對 GA 敏感性提升之過程，參與休眠作用蛋白質之功能包括貯藏性、構造性、參與能量利用、代謝作用、生長發育之蛋白，及參與訊息傳導甚至逆境反應之蛋白質，扮演調節及信息傳遞角色，過去十五年內對於種子休眠蛋白質體學上之研究進步快速，本文獻回顧藉由整理前人研究結果，試歸納種子休眠調控與發芽作用於基因及蛋白質層次之表現。

一、前言

種子休眠依作物不同可分為生理性休眠、型態性休眠、型態生理性休眠、物理性休眠及組合型休眠等(Baskin and Baskin, 2004; Savage and Metzger, 2006)，休眠為種子發芽現象受抑制，呈現發芽率低或發芽不穩定、不整齊等現象。以分子層次研究種子休眠包括轉錄體學、蛋白質體學及荷爾蒙調控等均牽涉其中，包括研究休眠及不休眠種子中轉錄子及蛋白質之表現，轉錄體學研究之對象為組織中所有轉錄子之表現，蛋白質體學研究之對象則為組織中所有蛋白質之表現(Finkelstein *et al.*, 2008)。近年來研究對於影響種子休眠之因素包括休眠相關基因、染色質及非酵素作用等有進一步了解，休眠作用之特徵為低代謝活性及對生長促進信號之暫時性不敏感(Graeber *et al.*, 2012)，調節種子休眠之基因可分為四類，種子成熟作用調節因子、荷爾蒙調節因子、種子休眠調節因子及染色質層次調節因子

1) 國立中興大學園藝系博士班研究生。

2) 國立中興大學園藝系教授，通訊作者。

(Graeber *et al.*, 2012)。

種子成熟作用調節因子參與種子休眠作用之誘導，此作用於種子成熟階段完成，此時貯藏蛋白質累積，乾燥耐受性獲得，同時代謝作用活性進入靜止狀態，種子成熟作用期間參與調節之轉錄因子為 *ABSCISIC ACID INSENSITIVE 3 (ABI3)*、*FUSCA 3 (FUS3)*、*LEAFY COTYLEDON 1 (LEC1)*及 *LEC2*，*ABI3* 目前已於燕麥及小麥測得類似基因(Jones *et al.*, 1997; Nakamura and Toyama, 2001)，某些調節因子藉由調節上述四種轉錄因子控制種子休眠作用(Graeber *et al.*, 2012)。

GA 及 ABA 對種子休眠及發芽調控扮演重要角色，其中參與調控之激酶 SNF1-related protein kinase (SnRK)家族中 SnRK2.2 及 SnRK2.3 對休眠作用、發芽時種子對 ABA 敏感度及相關基因表現具正向調節作用(Fujii *et al.*, 2007)，阿拉伯芥種子發育期間及種子休眠誘導時，SnRK2 家族中 SnRK2.2, SnRK2.3 及 SnRK2.6 具有傳導 ABA 訊息之功能(Nambara *et al.* 2010)，這些激酶的作用目標為 bZIP-type 轉錄因子，包括 *ABI5* 及 *ABSCISIC ACID RESPONSIVE ELEMENTSBINDING PROTEIN 3 (AREB3)*。

參與休眠作用調節之因子中，DELLA 蛋白參與種子休眠作用之調控，DELLA 蛋白為參與荷爾蒙調節種子休眠中，與 GA 及 ABA 拮抗作用產生交互影響之蛋白質(Achard and Genschik, 2009)，其為種子對 GA 反應之負調節因子，即具抑制 GA 作用之功能，相反地，GA 則藉由解除 DELLA 蛋白之限制促進發芽，GA 使其產生向下調節，ABA 則使其向上調節(Achard and Genschik, 2009)，目前已於水稻、大麥及阿拉伯芥中得知 *DELLA* 基因存在，其與 *RGA*, *GAI*,及 *RGL1* 共同影響種子發芽(Cao *et al.*, 2005)。*DELLA* 可能藉由限制水解酵素及細胞壁修飾酵素影響種子發芽，GA 則藉由促進水解作用解除其表現，阿拉伯芥休眠種子中具有與 ABA 合成、GA 分解作用及逆境反應相關之蛋白質，如胚發生晚期累積蛋白質及熱休克蛋白，同時轉譯能力受限制，休眠種子及不休眠種子於參與代謝作用及轉錄調節作用之基因表現有所不同，不休眠種子中表現之基因多為參與細胞組織化作用、生合成及水解作用之基因，有助於胚根萌發作用進行，且荷爾蒙代謝作用也轉換為以 ABA 分解(*CYP707A2*)及 GA 合成(*GA3ox2*)為主之基因表現(Finkelstein *et al.*, 2008)。

二、引起種子休眠作用之基因

已有許多研究證實種子內調節 ABA 或 GA 之生化合成使影響其敏感性，導致種子休眠現象之基因，目前已有部分種子休眠相關基因受證實，最初由阿拉伯芥種子選殖出的休眠數量性狀基因座(quantitative trait loci, QTL)為 *DELAY OF GERMINATION 1 (DOG1)*，其編碼之蛋白質功能未明(Bentsink *et al.*, 2006)，阿拉伯芥以 *DOG1* 為誘導種子休眠之關鍵，水稻則以 *Seed dormancy 4 (Sdr4)*為休眠主要決定因素，*Sdr4* 位於細胞核中並影響 *DOG1-LIKE genes* 表現，相當於阿拉伯芥中 *DOG1* 之角色(Sugimoto *et al.*, 2010)，環境因子藉由影響基因表現如 *DOG1*，控制 ABA/GA 含量，進而影響種子休眠。單子葉植物與雙子葉植物休眠基因表現不盡相同(Graeber *et al.*, 2012)，阿拉伯芥種子中 *DOG1* 基因被認為是主要

影響種子休眠作用之基因，在獨行菜及油菜種子中亦發現類似基因，且兩者之啟動子均具有 RY repeat，與 *ABI3/VPI* 參與之休眠基因表現有關(Bentsink *et al.* 2006；Graeber *et al.* 2010；Nambara *et al.* 2010)，水稻中啟動子同樣具有 RY repeat 的基因為 *Sdr4*，同樣與休眠作用相關(Sugimoto *et al.* 2010)。

另一個與休眠作用相關之基因 *MFT* 則與 ABA 訊息傳遞及休眠誘導有關，可於小麥及阿拉伯芥中測得(Footitt *et al.*, 2011；Nakamura *et al.*, 2011)。利用高效定量 RT-PCR (high-throughput quantitative) 於阿拉伯芥種子測得兩個種子休眠調節因子，即屬於 C3HC4 環指蛋白(RING zinc finger protein)之 *DESPIERTO (DEP)*與 HDZip gene *ATHB20* (Barrero *et al.*, 2010)。

AtNCED (9-*cis*-epoxycarotenoid dioxygenase)家族(*NCED6* 及 *NCED9*)於種子休眠誘導期間影響胚及胚乳中 ABA 之合成作用，目前已知與休眠維持作用相關之基因為 *NCED6*, *NCED9*, 及 *ZEP* (zeaxanthin epoxidase)，與 ABA 分解及休眠解除相關之基因則為 *CYP707A2*, GA 藉由轉換胚之發育狀態促進發芽作用進行，其媒介為染色質修飾因子 PICKLE (PKL)(Finkelstein *et al.*, 2008)。大麥種子中發現 *NCED* 基因表現與 ABA 引起之休眠作用有關(Leymarie *et al.* 2008)，二穗短柄草(*Brachypodium distachyon*)休眠種子內 ABA 含量較高，經後熟作用後 *NCED1* 基因表現增加，同時 ABA 含量減少(Barrero *et al.* 2012)。由 ABA 引起之種子休眠中，煙草種子之休眠性與參與 ABA 合成之內生玉米黃質環氧化酶(Zeaxanthin epoxidase)編碼基因之過量表現有關(Frey *et al.* 1999)，在菜豆及番茄種子中則發現 *NCED* 基因之過量表現增強種子休眠作用及提升 ABA 含量(Qin and Zeevaart, 2002; Thompson *et al.* 2000)。

三、種子休眠解除時基因表現

受環境及荷爾蒙影響所產生之活化氧族具切斷細胞壁多糖體之功能，同時與 ABA 訊息傳遞路徑交互作用，並參與種子休眠解除及後熟作用(Graeber *et al.*, 2012)，種子後熟作用期間蛋白質發生轉譯後修飾，如羧基化作用及活化氧族之累積，向日葵種子及阿拉伯芥種子內特殊蛋白質羧基化作用之發生均與活化氧族累積相關(Job *et al.*, 2005；Oracz *et al.*, 2007)。發芽作用進行時貯藏蛋白質之羧基化作用有助於蛋白質重新分配與水解作用之進行(Graeber *et al.*, 2012)，阿拉伯芥種子後熟後活化氧族促進 NADPH 氧化酵素 *AtrbohB* 之產生(Müller *et al.* 2009a)，阿拉伯芥種子經過後熟作用後種子內 GA 生合成基因 *GA3ox2 (GIBBERELLIN 3 OXIDASE)*轉錄子強度增加至休眠種子之 40 倍，相對地，深度休眠種子中則以 GA 去活化酵素編碼基因 *GA2ox1 (GIBBERELLIN 2 OXIDASE)*表現較高(Savage *et al.*, 2007)，層積處理誘導阿拉伯芥種子中 GA 生合成基因 *GA20ox1*, *GA20ox2*, 及 *GA3ox1*表現增加，並減少了 GA 分解基因 *GA2ox2* 之表現(Yamauchi *et al.*, 2004)。顯示種子休眠與 GA 去活化基因表現相關，同時打破休眠處理藉由誘導 GA 生合成解除種子休眠。

小麥種子具休眠性且程度深淺不一，活化氧族於減輕小麥種子休眠扮演重要角色，浸

種後種子內活化氧族含量增加有助於種子休眠解除，活化氧族過多則導致蛋白質羰基化作用而失活，因此需藉由抗氧化系統調節種子內活化氧族之平衡，浸種前，休眠種子內可測得蛋白質包括參與糖解作用/糖質新生、檸檬酸循環、澱粉代謝作用、胺基酸代謝作用及抗氧化反應之酵素，與蛋白質結構、運輸、訊息傳導相關蛋白及貯藏蛋白等，不休眠種子中則以 phospho-glycerate kinase、succinyl-CoA ligase β -鏈、 β -amylase isoforms、enolase、pyruvate orthophosphate dikinase 1、ADP-glucose pyrophosphorylase small subunit、UDP-D-glucuronate decarboxylase、cytosolic malate DH、alanine aminotransferase、aspartate aminotransferase、serpin-Z1A、serpin-Z2B、serpin-Z1C、cell division control protein、27 K thioredoxin family protein 及 aldehyde DH 等蛋白表現較高，上述蛋白質與碳水化合物代謝、二次代謝、胺基酸代謝、細胞分裂及抗氧化反應等相關。浸種後，休眠種子內超氧化歧化酶、small Ran-related GTP-binding protein 及 β -amylase isoforms、NADP-malic enzyme、serpin Z1B、proteinase subunit 20S proteasome alpha type-7-A、脫氫抗壞血酸還原酵素、醛去氫酶及 globulin 等蛋白表現增強，不休眠種子內表現較高之蛋白質為參與糖解作用/糖質新生作用之蛋白質，亦包括 triosephosphate isomerase、phosphofructokinase、phosphoglucomutase、alcohol dehydrogenase (DH)、cytosolic phosphoglyceratekinase、 α -amylase inhibitors、glucose and ribitol DH、formate DH、glyceraldehyde-3-phosphate DH、NADP-specific isocitrate DH、serpin Z1C 及 globulins 等蛋白(Espín *et al.*, 2011)。

四、乾燥後熟解除休眠之基因表現

種子乾燥貯藏後熟有助於休眠解除，阿拉伯芥種子發芽約需 4 天，阿拉伯芥浸種後休眠種子內貯藏蛋白質、伴侶蛋白及與胺基酸代謝與轉譯作用相關之蛋白質累積量較不休眠種子高，不休眠種子內累積較多之蛋白質為 cruciferin precursors、HSP70(Heat Shock Protein 70)及 isocitrate lyase，僅於不休眠種子中表現之蛋白質為 CRA1 gene precursor，阿拉伯芥種子中主要貯藏蛋白質為 Cruciferins，為球蛋白的一種，此蛋白質由酸性 α 亞單元與鹼性 β 亞單元共同組成，於貯藏期間逐漸累積，並與休眠解除有關，浸種後，不休眠種子內 Cruciferins 蛋白表現迅速減少，阿拉伯芥種子休眠解除時，種子內與逆境反應相關之基因有所表現，顯示其休眠性之解除與種子自我保護機制有關，編碼脫水素之基因於休眠種子內表現較高，該蛋白屬於胚發生晚期累積蛋白質家族，並與乾燥耐受性有關，雖然最初含量以休眠種子較高，但不休眠種子具有重新合成脫水素之能力，休眠種子則否，HSP70 於不休眠乾燥種子內表現較高，此蛋白質於逆境下受誘導表現，休眠種子蛋白質重新合成能力並不較不休眠種子低，但其中重新合成之蛋白質間表現與合成模式不同，休眠解除後，種子內蛋白質合成之模式改變，並具有完成發芽作用之能力，不休眠種子轉譯特定一組基因，並貯存與成熟作用及種子內重新合成作用相關之 mRNA，這些因素為種子成功發芽之關鍵，不休眠種子中 tubulin 之重新合成與累積影響發芽作用完成甚鉅，阿拉伯芥種子乾燥貯藏後休眠解除與特定蛋白質之累積與重新合成有關如，cruciferin precursors (Chibani

et al., 2006)。

向日葵種子發育過程中，獲得休眠性時種子脫水素及胚發生晚期累積蛋白質多肽鏈出現，浸種後，這些多肽鏈於 24 小時內消失，這些與休眠相關之蛋白質僅於休眠種子胚中表現，不休眠種子胚中並未表現，浸種初期向日葵休眠及不休眠種子中特定蛋白質之表現與維持種子休眠作用之基因表現有關，且受 ABA 誘導之蛋白質有所表現，如胚發生晚期累積蛋白質(Garello *et al.*, 2000)。向日葵種子之休眠性由種皮限制及胚引起，乾燥貯藏處理可解除種子休眠，前人研究中曾提出，以氰化氫處理有助於向日葵種子解除休眠，其機制與活化氧族及蛋白質氧化作用有關，活化氧族及脂質氧化作用發生後，種子內蛋白質進行氧化修飾作用，有助於休眠解除，向日葵種子休眠解除與種子內過氧化氫與超氧自由基之作用增強有關，種子乾燥貯藏期間丙二醛(malondialdehyde; MDA)含量顯著增加，顯示脂質過氧化作用之進行，脂質過氧化作用即羰基化作用(carbonylation)，乾燥貯藏後熟期間 elongation factor 2 (EF2)及 pyruvate orthophosphate dikinase (PPDK)等蛋白質羰基化作用增加。向日葵種子乾燥貯藏後休眠解除與某些蛋白質羰基化作用減少有關，如 20S proteasome α -subunit，另外一些蛋白質羰基化作用維持不變，如 81 及 70 kDa heat shock proteins 及 enolase，向日葵不休眠種子胚軸內蛋白質氧化作用較高，這些蛋白質分子量約介於 15~40 kDa，乾燥後熟後種子內擁有之蛋白質中，於浸種期間發生羰基化作用之蛋白質為 EF2、PPDK、HSP、enolase 及 7S globulin，globulin-like protein 亦於浸種後胚軸中發生羰基化作用，但其氧化程度以浸種後由胚軸較高，向日葵休眠種子經乾燥貯藏後熟再以氰化氫及 methylviologen 處理後，休眠種子內測得發生羰基化作用之蛋白質為 11S storage protein 及 epoxide hydrolase，不休眠種子胚軸中則未測得，向日葵種子休眠性由種皮及胚引起，methylviologen 之功能為於植物體中引起氧化壓力。向日葵種子之休眠可藉由乾燥貯藏或以氰化氫或 methylviologen 處理解除，其機制與蛋白質之羰基化膜式有關，乾燥貯藏期間，EF2, PPDK 及 7S globulin 等蛋白質羰基化作用增加。EF2 功能為蛋白質轉譯中延長階段催化 peptidyl-tRNA 於運移核糖體之作用，種子乾燥貯藏期間 EF2 之羰基化會終止與發育過程相關蛋白質之合成作用。貯藏蛋白質之羰基化與其重新分配作用相關，熱休克蛋白之羰基化作用顯示其抵抗氧化逆境，globulin precursor isoform 4 及 basic 2S albumin 之氧化模式與酒精脫氫酵素相同，顯示種子發芽作用需要特定蛋白質進行氧化，以氰化氫及 methylviologen 處理後，休眠種子胚軸中 putative epoxide hydrolase 進行羰基化作用，epoxide hydrolase 催化 epoxide 為 diols，此作用與外生物質去毒作用有關，如藥物代謝及氧化逆境反應等，向日葵種子休眠解除與貯藏期間種子內活化氧族累積及蛋白質氧化作用有關 (Oracz *et al.*, 2007)。

種子發芽時子葉中參與能量提供、逆境反應、蛋白質修飾、轉錄作用及貯藏作用等新陳代謝之蛋白質活化，隨之進行包括澱粉及蔗糖代謝、糖解作用及檸檬酸循環等作用，抗氧化酵素活性也受活化，綠豆種子內貯藏物質之型態轉化與發芽作用相關，綠豆發芽過程中蛋白質表現之變化可分為四類，第一類為表現無顯著改變之蛋白質，第二類為浸種 24

小時至 48 小時期間表現改變之蛋白質，包括表現增強及表現減少，第三類為僅於浸種 48 小時表現之蛋白質，第四類為浸種 24 小時表現，浸種 48 小時後消失之蛋白質。澱粉水解作用進行時，starch degrading enzyme、starch phosphorylase、 β -amylase、sucrose degrading enzymes invertase、sucrose synthase、fructose biphosphate aldolase、enolase 及 glyceraldehydes 3-phosphate dehydrogenase 等蛋白質表現增加，綠豆種子浸種 24 小時後 β -amylase 參與澱粉水解作用，隨後由 starch phosphorylase 取代，同時 invertase 將蔗糖轉化為葡萄糖及果糖，浸種 48 小時後，子葉中 ADP glucose pyrophosphorylase 及澱粉合成酶等蛋白質消失，可能由於澱粉降解，形成葡萄糖，此時則可測得參與乙醛酸循環(glyoxylate cycle)的 glyoxysomal malate dehydrogenase 及粒線體中參與檸檬酸循環的 malate dehydrogenase，貯藏蛋白質中，可測得蛋白素於浸種 48 小時後表現減少，顯示貯藏蛋白質已降解利用，浸種 24 小時後，可於發芽中綠豆種子內測得半胱氨酸蛋白酶，其於蛋白質水解初期作用，並於浸種 48 小時減少表現，隨後僅於浸種 48 小時出現之 endopeptidase 及 carboxypeptidase 蛋白質表現，顯示蛋白質水解活性再現，此外，同樣與蛋白質水解作用相關之 cathepsin B cysteine protease 可於浸種 24 小時測得，並於浸種 48 小時表現增強，浸種 24 小時出現，浸種 48 小時消失之蛋白質如參與莽草酸途徑之 shikimate kinase，以碳水化合物中間代謝產物為基質，進行芳香族化和物胺基酸、木質素、植物抗毒素及生物鹼等二次代謝物之合成，醛還原酶為醛酮還原酶家族，並於浸種 48 小時利用醛縮酶及醛類為基質將其轉化為乙醇。還原酵素中，葡糖脫氫酶及核糖醇脫氫酶利用葡萄糖為基質，並於胚發生時參與碳水化合物代謝，且與種子乾燥耐受性相關。轉錄因子中，bZIP 轉錄於浸種 48 小時表現減少，顯示由 ABA 調控之種子休眠作用解除並進行發芽作用，與種子成熟作用相關之蛋白質如熱休克蛋白及脫水素於種子發芽期間表現逐漸減少，與蛋白質修飾作用相關之蛋白質，如胰蛋白酶抑制因子，於浸種 48 小時表現減少，這類蛋白酶與子葉中貯藏蛋白質重新分配供給胚生長利用有關，與逆境相關之蛋白質中，可測得 1-Cys peroxiredoxin 蛋白之表現，與種子發芽時活化氧族之清除相關，參與細胞壁分解作用之 β -1,3-glucans 則於浸種 48 小時後消失(Ghosh and Pal, 2012)。

種子內貯藏蛋白及與乾燥作用相關之蛋白質與種子經過發育、成熟及乾燥作用後是否成活至關重要，種子進行發芽作用後便逐漸降解，發芽進行期間，細胞訊息傳導路徑、細胞壁生合成、核苷酸糖代謝作用及胺基酸生合成作用相關蛋白質迅速累積，同時其代謝及調節網絡重新作用，水稻種子約於浸種 48 小時後發芽，浸種後貯藏蛋白質如穀蛋白、球蛋白及 seed allergen 等蛋白質表現逐漸減少，貯藏蛋白質中部份蛋白質亦再度累積，如球蛋白，與種子乾燥作用相關之蛋白質如 early embryogenesis abundant protein、late embryogenesis abundant protein (LEA)及 ABA 誘導之蛋白質表現亦減少，相對地，參與貯藏物質水解作用及生理作用之蛋白質表現增加，如 α -amylase 於浸種 24 小時後表現迅速增加，參與糖解作用之 pyruvate orthophosphate dikinase、fructokinase 及 phosphoglycerate kinase 亦於浸種後表現增加，此外，逆境反應相關蛋白質表現亦增加，發芽作用除消耗貯

藏物質外，同時賦予植物抵抗逆境之能力及重組其形態，此類蛋白質如 Allergenic proteins，有助於種子抵抗病蟲害(He *et al.*, 2011)。

浸種後種子氧氣吸收迅速，氧化磷酸化作用進行並供給種子能量，此時活化氧族亦增加，細胞中氧化還原之平衡由抗氧化酵素及抗壞血酸-穀胱甘肽循環系統維持，抗壞血酸-穀胱甘肽循環系統中參與酵素包括抗壞血酸過氧化酵素(ascorbate peroxidase; APX)，單去氫抗壞血酸還原酶(monodehydroascorbate; MDHA)，去氫抗壞血酸(dehydroascorbate; DHA)，氧化型穀胱甘肽(GSSG)，還原型穀胱甘肽(GSH)，單脫氫抗壞血酸還原酶(monodehydroascorbate reductase; MDHAR)，脫氫抗壞血酸還原酵素(dehydroascorbate reductase; DHAR)，穀胱甘肽還原酵素(glutathione reductase; GR)。大麥種子於浸種 24 小時後發芽，浸種初期胚中可測得脫氫抗壞血酸還原酵素、單脫氫抗壞血酸還原酶及穀胱甘肽還原酵素活性，脫氫抗壞血酸還原酵素活性於浸種期間先減少後增加，單脫氫抗壞血酸還原酶及穀胱甘肽還原酵素活性於浸種後期大幅增加，抗壞血酸過氧化酵素蛋白質於發芽時間胚中測得，直到發芽完成為止，顯示抗壞血酸-穀胱甘肽循環影響種子胚根突出作用(Bonsager *et al.*, 2010)。

五、種子休眠調控與發芽作用

由不同作物蛋白質表現結果可知，在蛋白質層次表現上休眠種子中熱休克蛋白、胚發生晚期累積蛋白及與逆境反應相關之蛋白質表現均較高，同時受 ABA 誘導表現之蛋白質亦較高。休眠解除後，種子內蛋白質經由特定模式轉換為發芽型態，種子發芽進行期間，與蛋白質訊息傳導、細胞壁修飾、轉錄轉譯、貯藏物質水解及能量代謝相關蛋白質表現增加，另外如二次代謝、逆境反應及抗氧化反應相關蛋白表現亦增加。顯示種子內調控種子休眠及發芽作用之基因及蛋白質運作模式為一網絡，種子發芽作用之進行有賴於特定功能蛋白質本身構造完整，同時新陳代謝功能健全，休眠種子可能由於這些蛋白質功能構造不全或缺乏因此無法正常進行發芽作用。

參 考 文 獻

- 林學詩。1995。台灣農家要覽-農作三。豐年社。台北。pp. 487-490。
- 黃如葵。2006。冬瓜種子質量在其發育過程及採後處理中的變化。中國蔬菜 9: 16-18。
- Achard, P. and P. Genschik. 2009. Releasing the brakes of plant growth: how GAs shutdown DELLA proteins. *J. Exp. Bot.* doi:10.1093/jxb/ern301.
- Barba-Espín, G., P. Diaz-Vivancosi, D. Job, M. Belghazi, C. Job, and J. A. Hernández. 2011. Understanding the role of H₂O₂ during pea seed germination: a combined proteomic and hormone profiling approach. *Plant Cell Environ.* 34: 1907-1919.
- Barrero, J. M., A. A. Millar, J. Griffiths, T. Czechowski, W. R. Scheible, M. Udvardi, J. B. Reid,

- J. J. Ross, J. V. Jacobsen, and F. Gubler. 2010. Gene expression profiling identifies two regulatory genes controlling dormancy and ABA sensitivity in *Arabidopsis* seeds. *Plant J.* 61: 611-622.
- Barrero. J. M., J. V. Jacobsen, M. J. Talbot, R. G. White, S. M. Swain, D. F. Garvin, and F. Gubler. 2012. Grain dormancy and light quality effects on germination in the model grass *Brachypodium distachyon*. *New Phytol.* 193: 376-386.
- Baskin, J. M., C. C. Baskin, and X. Li. 2000. Taxonomy, anatomy and evolution of physical dormancy in seeds. *Plant Spec. Biol.* 15: 139-152.
- Bentsink, L., J. Jowett, C. J. Hanhart, and M. Koornneef. 2006. Cloning of *DOG1*, a quantitative trait locus controlling seed dormancy in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1036: 17042-17047.
- Bewley, J. D. and M. Black. 1997. *Seed physiology of development and germination* 2nd edition. Plenum Press. New York. pp. 36-39, 117-119.
- Bewley, J. D., K. J. Bradford, H. W. M. Hilhorst, H. Nonogaki. 2012. *Seeds: physiology of development, germination and dormancy*, 3rd Edition. Springer. New York Heidelberg Dordrecht London. pp. 27-83.
- Bonsager, B. C., A. Shahpiri, C. Finnie, and B. Svensson. 2010. Proteomic and activity profiles of ascorbate-glutathione cycle enzymes in germinating barley embryo. *Phytochemistry* 71: 1650-1656.
- Bozena, C. and K. Schmitz. 1997. Changes in soluble sugar and activity of α -galactosidases and acid invertase during muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruit development. *J Plant Physiol.* 151: 41-50.
- Cao, D. N., A. Hussain, H. Cheng, and J. R. Peng. 2005. Loss of function of four *DELLA* genes leads to light- and gibberellin-independent seed germination in *Arabidopsis*. *Planta* 223: 105-13.
- Chibani, K., S. Ali-Rachedi, C. Job, D. Job, M. Jullien, and P. Grappin. 2006. Proteomic analysis of seed dormancy in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 142: 1493-1510.
- Copeland, L. O. and M. B. McDonald. 2001. *Principles of seed science and technology* 4th edition. USA. pp. 24, 27, 201-203.
- Desai, B. B., P. M. Kotecha, and D. K. Salunkhe. 2004. *Seeds Handbook: Biology, Production, Processing and Storage (Books in Soils, Plants, and the Environment)*. Marcel Dekker, Inc. New York. pp. 7, 15-19, 73-74, 78-79, 118, 121.
- Finkelstein, R., W. Reedves, T. Ariizumi, and C. Steber. 2008. Molecular aspects of seed dormancy. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59: 387-415.
- Footitt, S., I. Douterelo-Soler, H. Clay, and W. E. Finch-Savage. 2011. Dormancy cycling in

- Arabidopsis* seeds is controlled by seasonally distinct hormone-signaling pathways. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 108: 20236-20241.
- Frey, A., C. Audran, E. Marin, B. Sotta, and A. Marion-Poll. 1999. Engineering seed dormancy by the modification of zeaxanthin epoxidase gene expression. Plant Mol. Bio. 39: 1267-1274.
- Fujii, H., P. E. Verslues, and J. K. Zhu. 2007. Identification of two protein kinases required for abscisic acid regulation of seed germination, root growth, and gene expression in *Arabidopsis*. Plant Cell 19: 485-94.
- Garello, G., P. Barthe, M. Bonelli, J. Bianco-Trinchant, J. Bianco, and M. Le Page-Degivry. 2000. Abscisic acid-regulated responses of dormant and non-dormant embryos of *Helianthus annuus*: Role of ABA-inducible proteins. Plant Physiol. Biochem. 38: 473-482.
- Ghosh, S. and A. Pal. 2012. Identification of differential proteins of mungbean cotyledons during seed germination: a proteomic approach. Acta Physiol. Plant 34: 2379-2391.
- Graeber, K., A. Linkies, K. Müller, A. Wunchova, A. Rott, and G. Leubner-Metzger. 2010. Cross-species approaches to seed dormancy and germination: conservation and biodiversity of ABA-regulated mechanisms and the *Brassicaceae DOG1* genes. Plant Mol. Biol. 73: 67-87.
- Graeber, K., K. Nakabayashi, E. Miatton., G. Leubner-Metzger, and W. J. J. Soppe. 2012. Molecular mechanisms of seed dormancy. Plant Cell Environ. 35: 1769-1786.
- Handley, L. W., D. M. Pharr, and R. F. McFeeters. 1983. Carbohydrate changes during maturation of cucumber fruit. Plant Physiol. 72: 498-502.
- He, D. L., C. Han, and P. F. Yang. 2011. Gene expression profile changes in germinating rice. J. Integr. Plant Biol. 53: 835-844.
- Job, C., L. Rajjou, Y. Lovigny, M. Belghazi, and D. Job. 2005. Patterns of protein oxidation in *Arabidopsis* seeds and during germination. Plant Physiol. 138: 790-802.
- Jones, H. D., N. C. B. Peters, and M. J. Holdsworth. 1997. Genotype and environment interact to control dormancy and differential expression of the *VIVIPAROUS 1* homologue in embryos of *Avena fatua*. Plant J. 12: 911-20.
- Justice, O. L. and L. N. Bass. 1978. Principles and practices of seed storage. U. S. Department of Agriculture handbooks. pp. 506.
- Leymarie, J., M. E. Robayo-Romero, E. Gendreau, R. L. Benech-Arnold, and F. Corbineau. 2008. Involvement of ABA in induction of secondary dormancy in barley (*Hordeum vulgare* L.) seeds. Plant Cell Physiol. 49: 1830-1838.
- Madore, M. A. 2011. Biosynthesis and degradation of galactosyloligosaccharides. Glycoscience: Chemistry and Chemical Biology I-III Chapter 5.4.
- McDonald, M. B. and L. O. Copeland. 1997. Seed production. Chapman & Hall. New York. pp. 19-28.

- Müller, K., A. C. Carstens, A. Linkies, M. A. Torres, and G. Leubner- Metzger. 2009a. The NADPH-Oxidase *AtrbohB* plays a role in *Arabidopsis* seed after-ripening. *New Phytol.* 184: 885-897.
- Nakamura, S. and T. Toyama. 2001. Isolation of a *VPI* homologue from wheat and analysis of its expression in embryos of dormant and nondormant cultivars. *J. Exp. Bot.* 52: 875-76.
- Nakamura, S., F. Abe, H. Kawahigashi, K. Nakazono, A. Tagiri, T. Matsumoto, S. Utsugi, T. Ogawa, H. Handa, H. Ishida, M. Mori, K. Kawaura, Y. Ogihara, and H. Miura. 2011. A wheat homolog of *MOTHER OF FTANDTFLI* acts in the regulation of germination. *The Plant Cell* 23: 3215–3229.
- Nerson, H. 2007. Seed production and germinability of cucurbit crops. *Seed science and biotechnology* 1: 1-10.
- Orazc, K., H. E. M. Bouteau, J. M. Farrant, K. Cooper, M. Belghazi, C. Job, D. Job, F. Corbineau, and C. Bailly. 2007. ROS production and protein oxidation as a novel mechanism for seed dormancy alleviation. *Plant J.* 50: 452-465.
- Qin, X. and J. A. D. Zeevaart. 2002. Overexpression of a *9-cisepoxycarotenoid dioxygenase* gene in *Nicotiana plumbaginifolia* increases abscisic acid and phaseic acid levels and enhances drought tolerance. *Plant Physiol.* 128: 544-551.
- Sugimoto, K., Y. Takeuchi, and K. Ebana. 2010. Molecular cloning of *Sdr4*, a regulator involved in seed dormancy and domestication of rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107: 5792-5797.
- Thompson. A. J., A. C. Jackson, R. C. Symonds, B. J. Mulholland, A. R. Dadswell, P. S. Blake, A. Burbidge, and I. B. Taylor. 2000. Ectopic expression of a tomato *9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase* gene causes over-production of abscisic acid. *Plant J.* 23: 363-374.
- Welbaum, G. E. 1993. Water relations of seed development and germination in muskmelon (*Cucumis melo* L.) VIII. Development of osmotically distended seeds. *J. Exp. Bot.* 44: 1245-1252.
- Welbaum, G. E. and K. J. Bradford. 1991. Water relations of seed development and germination in muskmelon (*Cucumis melo* L.) VII. Influence of after-ripening and ageing on germination responses to temperature and water potential. *J. Exp. Bot.* 42: 1137-1145.
- Yamauchi, Y., M. Ogawa, A. Kuwahara, A. Hanada, Y. Kamiya, and S. Yamaguchi. 2004. Activation of gibberellin biosynthesis and response pathways by low temperature during imbibitions of *Arabidopsis thaliana* seeds. *Plant Cell* 16: 367-78.
- Zaini, N. A. M., A. Farooq, A. A. Hamid, and S. Nazamid. 2011. Kundur (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.): A potential source for valuable nutrients and functional foods. *Food Res. Int.* 44: 2368-2376.

Investigation of Seed Dormancy and Germination Process in Genetic and Proteomic Level

Hong-Ling Yeh¹⁾ Yu Sung²⁾

Key words: Seed, Dormancy, Germination, Proteomic

Summary

Seed dormancy is a complicated process. In recent studies, some clue indicated that functional proteins involved in seed dormancy and dormancy release regulation. Those functional proteins regulated by GA and ABA. Seed dormancy release accompany with seed ABA content and ABA sensitivity decreased. While seed GA content and GA sensitivity increased. Functional proteins that regulate seed dormancy include proteins involved in storage, structural, energy utilization, seed growth and development, signal transduction, and stress response. Proteins play an important role in regulation and signal transduction. In the past one and a half decades, seed dormancy proteomic research improved rapidly. This review focus on generalized past studies and comprehend seed dormancy regulation and germination process in genetic and proteomic level.

1) Graduate student in Ph. D. Program, Department of Horticulture, National Chung Hsing University.

2) Professor, Department of Horticulture, National Chung Hsing University. Corresponding author.

